



SCHWEIZERISCHE EIDGENÖSSISCHE
EIDGENÖSSISCHES INSTITUT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein
Schweizerisch-Liechtensteinischer Patentenschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

CH 688 504 A5

Int. Cl. 6: A61K 031/015
A61K 031/22
A61K 031/225

(12) JF

② PATENTSCHRIFT A5

① Gesuchenummer: 0028295

② Inhaber:
Mering S.A., Hackbergez 40, c/o Dr. Eugster,
4128 Rüthen (CH)

② Anmeldungsdatum: 28.03.1997

③ Patent erteilt: 31.10.1997

④ Erfinder:
Eugster, Carl, Dr., Rüthen (CH)
Haltermann, Walter, Dr., Binsingen (CH)

⑤ Ultramikroemulsionen aus spontan dispergierbaren Konzentraten mit antitumoralem wirksamem Taxol
und m.R. Taxol-analogen Verbindungen.

⑥ Spontan dispergierbare Konzentrate mit antitumoralem
wirksamem Taxol und mit Taxol-analogen Verbindun-
gen, ihre Zusammensetzung und Überführung in wässe-
rige Ultramikroemulsionen, sowie ihre Verwendung als Mittel
zur Herstellung eines pharmazeutischen Kombinations-
präparates mit erhöhter und gut verträglicher Wirksamkeit
gegen Tumore, Peptasis und Elzeme werden beschrie-
ben.

CH 688 504 A5

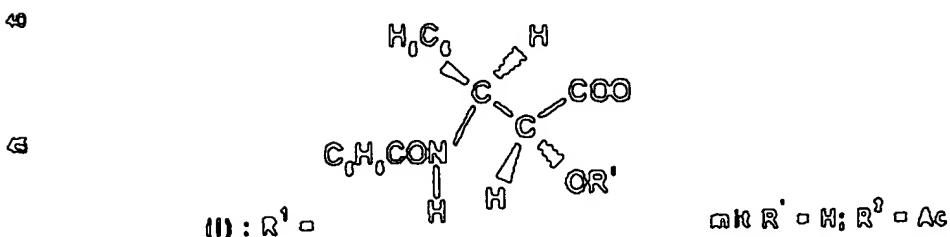
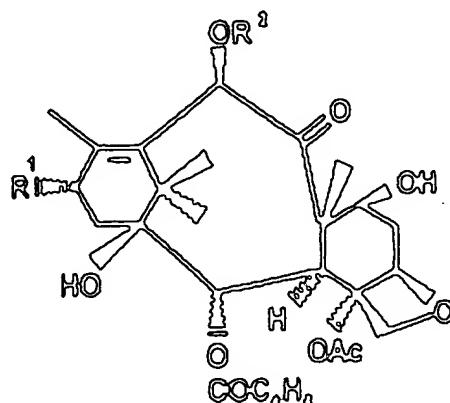
Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft speziell oligosynthetische Konzentrationen mit schwer bösartigen Tumoren und anderen schwer bösartigen Tumoren-Varietäten, ihre Zusammensetzung und Herstellung in pharmazeutisch-therapeutischen Konzentrationspräparaten mit oraler und gut verträglicher Wirkstoffkonzentration gegen Tumoren. Präparat und Elektro.

Angewählt, in Wasser schwer bösartige Tumoren-Varietäten haben die mit einer Wirkung gegen Tumoren, Elektro und Schuppenflechte, wenn wenn es in speziellen oligosynthetischen MAFEGENOL Konzentrationen eingestellt und dann mit ebenfalls Wasser, Säuerung oder physiologischer Kochsalzlösung (Physiologisch) verdünnt werden sind, wobei sich thermodynamisch stabile Lösungskonstellationen mit gebundenen Molekülen ausbilden, welche einen hydrodynamischen Radius von 2.2 bis 3.0 nm aufweisen.

Beschreibung der Erfindung

Das für die Formulierung von erfindungsgemäßen Konzentrationen ausgewählte Tumol (Präparat) und die Tumoren-Varietäten haben die Formeln (I) bis (XVIII):

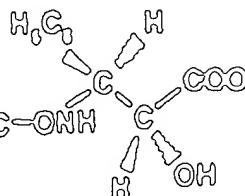


TAXOL = PACITAXEL, Rohstoffe (Rohöl und Katalysator Y-01) von DASUR INDIA LTD, Karol Bagh, Block E, Connaught Place, New Delhi und 22, Shri M. Shrivastava Street (U. P) Indien bezogen.

95

80

85



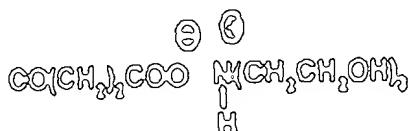
3

(III) : R¹ = TAXOTÈRE
10, R² = H(III) : R¹ = OH ; R² = H
10-DEACETYLBACCATIN-III (DAB)

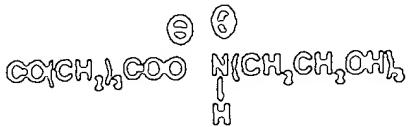
18

(IV) : R¹ = OH ; R² = AcBACCATIN-III- und DAB-Reststrukturen (siehe 20. Handlung Yew) von DABUR INDIA LTD. Herren
Brown, Block 420, Connaught Place, New Delhi und Zz. Sto N, Santacruz (Mumbai) (U. P) India
bezogen.

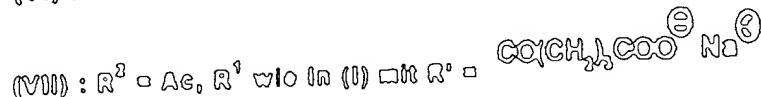
22

(IV) : R² = Ac, R¹ wie in (II) mit R' =

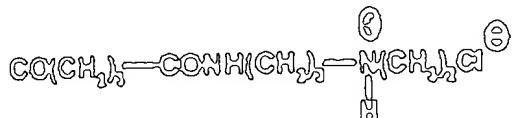
26

(V) : R² = Ac, R¹ wie in (II) mit R' =

30

(VI) : R² = Ac, R¹ wie in (II) mit R' =

34

(VII) : R² = Ac, R¹ wie in (II) mit R' =

38

(VIII) : R² = Ac, R¹ wie in (II) mit R' =

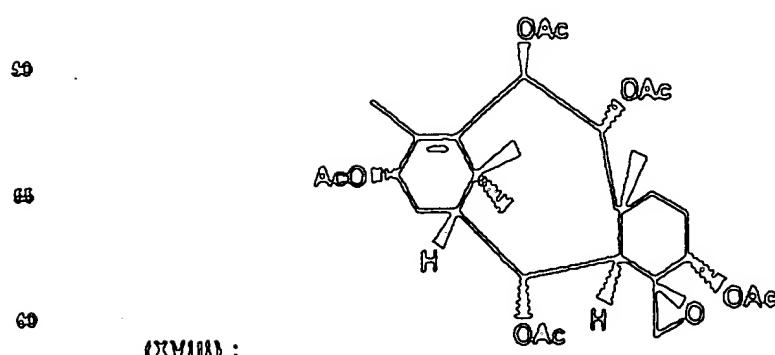
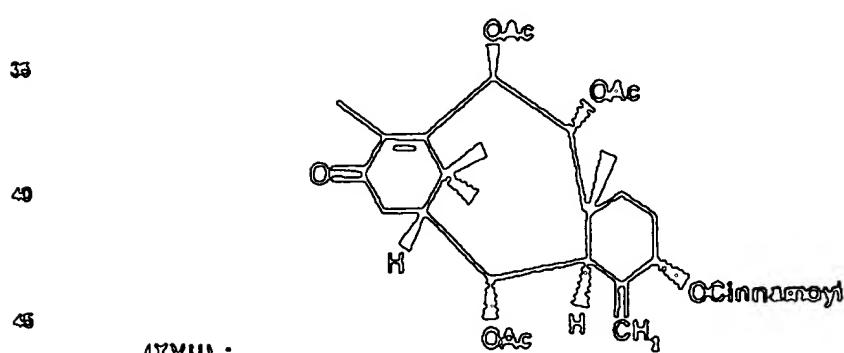
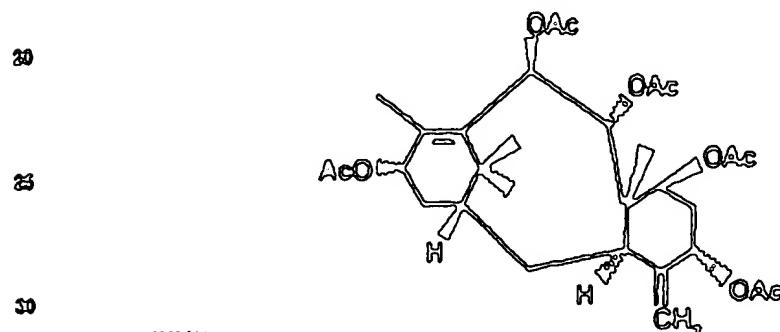
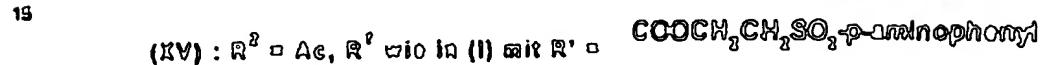
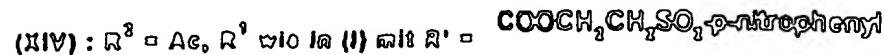
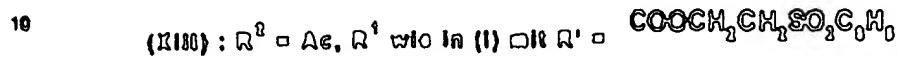
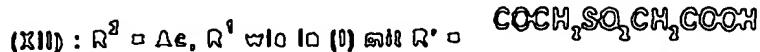
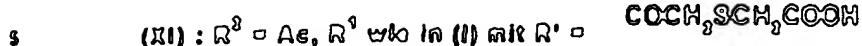
42



55

59

63



Weitere Anmerkungen von Projektmitgliedern und uns in folgenden Präsentationen berücksichtigt

EP 0569 281 A1 (Priority 03.03.1982; U.S. 579,631, British 1,579,826) (Photo)

MI 05.10.1892 PCT/FR 03/00223, France-Patente Recht S.A.
MI 05.10.1892 PCT/FR 03/00223, France-Patente Recht S.A.

WO 2017031. Printed 30 January
/Printed 11.3.2019 23.01.23

(Priority U.S. Mail)
U.S. MAIL 192 22-03-53

U.S. GOVERNMENT PRINTING OFFICE 1914 7-1500

U.S. GOVERNMENT PRINTING OFFICE: 1940 10-1125
WQ 8417050, Florida State University. 07-100000000000

10 (Priority U.S. 02/010,722. 22.01.93

U.S. 67134, 522 220. PS

U.S. 02-083,160. 20.07.939

WO 9418162, Bryn Mawr College, Synthesis of 100,000

14 Prior U.S. 03/015.003, 05.02.2011

20 Es hat auch herausgestellt, dass die entarteten Winkely-Raman-Resonanzen singulärer werden entweder wenn sie in offenkundigster Weise thermodynamisch zwischen den Winkely-Wanderwellen münden, bei Wegfall der Bedingung von thermodynamischer Existenz oder Lösungswinkelwerten anfangs und endgültigen Tiefpunkten anfangs und endgültigen Tiefpunkten und das gilt vornehmlich

denkt, gelingt es, einen optimalen Schätzleistungspfad durch Variationen der Werte von α und β zu erzielen. Als experimentelle Beobachtungen an eingeschlossenen Krebsen wurden hierbei eine Erhöhung durch die Annahme daran, dass die ausgewählten Tiere aus und Colombia als primärer Lebensraum generiert in der weiblichen Phase organische Aggregate, z.B. Moos- und Grasbestände.

WISI und Prof. Dr. Peter Schmid (Universität Regensburg) beschäftigen sich mit der Entwicklung von Prostata- und Blasentumoren.

Die Richtung, in die ein kontinuierlicher Diffusionsvorgang einschlägt, wird vom Konzentrationsunterschied bestimmt.

50 In das Wirtschaftssystem durch die Münzen der Nationalen Banken

1. vom Konzentrationsunterschied ist in einer Mischung die Löslichkeit der schwerlöslichen Substanz begrenzt
2. vom Tiefenunterschied des eindringenden Wirkstoffes oder Wirkprinzips
3. von der Wirkungszeit der eindringenden wasserigen Lösung (Erweichen)

55 3. von der Verdunstung
4. von der Temperatur.

Wie aus der nachstehenden Tabelle ersichtlich ist, hat Fe_3O_4 gleichzeitig einen kleinen hydrostatischen Radius von einem Diameterton von 4.169 cm^3 und eine Flammenabschirmfläche von 12.584 cm^2 .

MIZELLEN: VERHÄLTNS VOLUMEN ZU GESAMTOBERFLÄCHE

ZAHL DER MIZELLEN	HYDRODYNAMICHER RADIUS DER MIZELLEN	VOLUME DER MIZELLEN	GESAMTOBERFLÄCHE DER MIZELLEN
5	1 cm	4,187 cm³	12.524 cm²
	0,1 cm = 1 mm	4,187 cm³	125,24 cm²
	0,01 cm	4,187 cm³	1.252,4 cm²
10	0,001 cm	4,187 cm³	12,524 cm²
	0,0001 cm = 1 µm = 1000 nm	4,187 cm³	125,240 cm²
	0,00001 cm = 100 nm	4,187 cm³	1.252.400 cm²
15	10⁻⁰ cm = 10 nm	4,187 cm³	1.252,4 cm²
	10⁻¹ nm = 1 nm	4,187 cm³	12,524 cm²

Kugelvolumen = $\frac{4}{3} \pi r^3$
Kugeloberfläche = $4 \pi r^2$

20 Fazit: Durch die grosse Phasenoberfläche, welche die Mizellen mit einem hydrodynamischen Radius von 2,2 bis 3 nm in Ultramikromassen erzeugen, wird zunächst zu deren gezeigtem Diffusionsvermögen die rheologische Verteilung (-spannung) und somit die gewünschte Abgriff, d.h. die Steifigkeit und Blockarbeit der Kolloidemulsion, welche in der inneren Phase der Mizellen in monomer oder abgeimer aggregierter Form verliegen, ebenfalls nicht vorstellbar. Das kann eine beträchtliche Erhöhung der brittalen Bruchung erlauben und damit unerwünschte Naturzersetzung verhindern oder Verzögern vorrangig haben.

Die «Paddungsschicht» eines spontan dispergierten, dichten MARIGEOL® Konzentrationsrasters in exponentieller Funktion mit der kleinen vorhandenen Teilchengröße der Mizellen zu bestimmen sind die nachstige Ausbildung der inneren Phase des Konzentrations, für ausgewogene Verteilung zum Gleichgewichtszustand und die Auswahl der je dazu passenden Tonids.

Die entstehungsgemäß spontan dispergierten Konzentrationen verteilen sich auf monomere Emulsionen:

0,5 bis 5 Gew.-% von Wasser oder einer Tensid-mitigen Verdünnung der Fettbasis (F) bis (AVII), bzw. Kombinationen weiterer Wirkstoffe, sowie

5 bis 25 Gew.-% eines ab Hydrophile, bzw. Cremulante charakter, phasenwirksamen Lösungsmittel oder Lösungsmittelgemisches,

5 bis 20 Gew.-% eines pharmazeutisch Tönids oder Tonidgemisches.

Sie können überaus unterschiedlich sein.

40 0 bis 10 Gew.-% eines Wollfats oder Provinzial,

0 bis 10 Gew.-% eines Subtilins, Radikalins oder Penicillatinsäure (penicillin or Des carboxylic).

Die entstehungsgemäß unterschiedlichen Öl-in-Wasser Ultramikromassen enthalten:

0,01 bis 5 Gew.-% eines spontan dispergierten Konzentrations wie oben beschrieben,

86 bis 98,99 Gew.-% gesättigtes Wasser, 55-ige Glucosierung oder physiologische Kochsalzlösung (Ringkonzentration),

0 bis 10 Gew.-% pharmazeutisch Tönids oder Zusatzstoffe und/oder Hilfsstoff.

Die entstehungsgemäß einzelne Tönids oder Tonidgemische können unterschiedlich, unterschiedlich, umphakt oder nicht-kompatibel sein. Bevorzugt sind die empfohlene oder nicht-kompatibel und haben ein HLB-Wertmaß (d.h. eine hydrophile-lipophile Balance) zwischen 2 und 16; vorzugsweise liegt es für Gemische zwischen 2 bis 6 einschließlich und 10 bis 15 einschließlich HLB-Werte geben Auskunft über die hydrophilen und lipophilen Eigenschaften eines Emulgators. Vgl. dazu «Hydrophilic-Lipophilic Balance: History and recent Developments» von Paul Saecher im Journal of Dispersions Science and Technology 6 (1), 81-93 (1984).

55 Gestaltete unterschiedliche Tonids können sowohl cog. wissenschaftliche Salze, als auch wissenschaftliche synthetische Verbindungen sein. Als Salze eignen sich die Alkali-, Erdalkali- oder organometallisch abstraktierten Ammoniumsalze von höheren Fettsäuren (C18-22), wie z.B. die reaktionen Na- oder K-Salze der Öl- oder Stearinäure, oder von natürlichen Fettsäuregräten, die sich u.a. aus Ketonen oder Tektopen gewinnen lassen. Formen sind u.a. Tonids auch die Fetteure-Methylketone, sowie reichhaltige und nicht-modifizierte Phospholipide zu entdecken.

60 Häufig werden jedoch organische synthetische Tonids verwendet, insbesondere Fattyacids, Fettsäure, sulfatierte Bariumtitanzid-Derivate oder Alkyldiurethane.

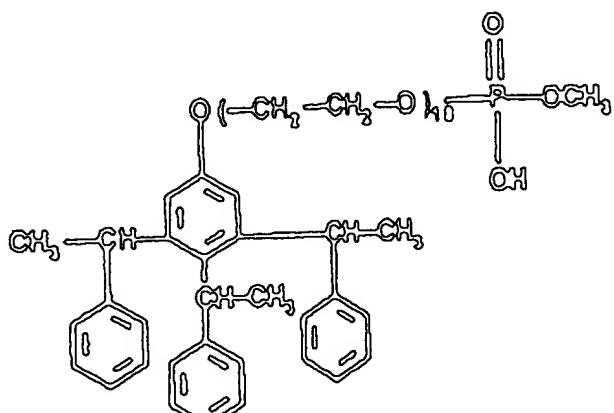
Die Fattyacids und -urethane liegen in der Regel als Alkali-, Erdalkali- oder organometallisch abstrakte Ammoniumsalze vor und weisen im Organischen einen Alkynd mit 0 bis 22 C-Atomen auf, wobei Alkyd auch den Alkynd von Acrylates einschließt. Besonders häufig sind das Na- oder Ca-Salz der U-

65

Ab Bildung nicht-tensio-
neller Tensids oder crutins
Ab Bildung nicht-tensio-
neller Tensids oder crutins
Ab Bildung nicht-tensio-
neller Tensids oder crutins
Ab Bildung nicht-tensio-
neller Tensids oder crutins

Bei den heterozygoten Typen handelt es sich vor über 90% um dominante Ameloblasten, während H-Strukturen mitunter einen Abgriff mit 8 bis 22 Calcificationen erhalten und die weiteren Strukturen meistens einen Abgriff mit 8 bis 22 Calcificationen erhalten. Bereits der rechte Hyperostosezyklus aufweist meistens eine geringe Anzahl von Calcificationen. Eine Ausnahme bildet der Typ, z.B. das Schläfenbein, bei dem die Schädelknochen verbleiben. Mitunter kann es auch eine Einfüllung vor, z.B. das Schläfenbein, bei dem die Schädelknochen verbleiben.

In letzten Minuten bevorzugt zur Herstellung von Cholinergenreaktionen, wegen des langen Halbwertszeitraums der Acetylcholinesterase.



(Soprophoro FL. RHÔNE-POULENC);

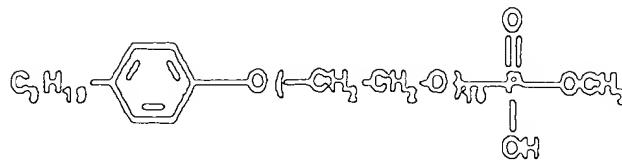
50 Diphoskop 3073 (CBA-GEIGY), bzw. das identische Sammelp. EA 100 (SERVO). Ein Meßstromzähler.
Widerstand aus ca. 50% der beiden Vorrichtungen mit dem Formelz.

60

61

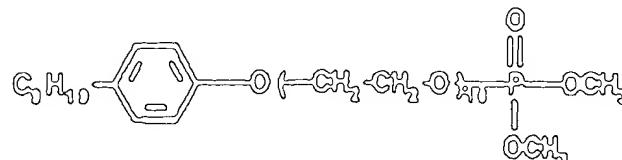
6

9



10

15



20

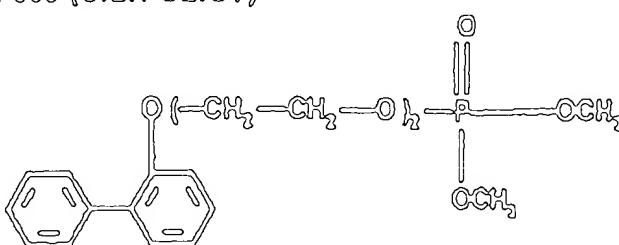
Diphosor 3073 (CIBA-GEIGY). Ein Alkyldiphenyl-Polyphosphonat-Polymerat

25

Toncid 500 (CIBA-GEIGY)

28

33



38

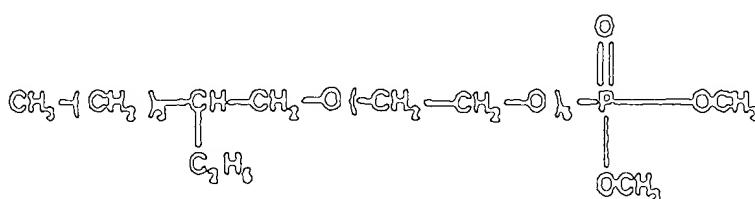
(Toncid 500, CIBA-GEIGY):

39

Tinowin® JU (CIBA-GEIGY). Ein Hydroxyäthoxy-10-chlorphenoxoat-Phosphonat-Bisphenol-A-Phosphordiester (Zorect® AT, CIBA-GEIGY), bzw.

40

45



50

(Zorect® JU AN, CIBA-GEIGY)

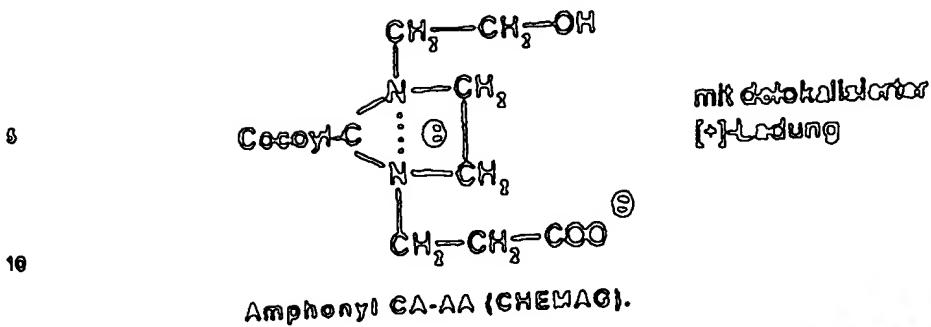
55

und andere Salzverbindungen der Amphetamine, z.B. und verwandte Nitroverbindungen, wie z.B. des neuen Verbindungsgegenstandes Toncid Amphetamine CA-VA, herstellen durch die Grünberg Chemie-Werke AG, Frankfurt a.M. (anwärts von der Firma Chemisches Forschungsinstitut Schäfer AG, CH-4116, Binningen):

58

63

68



Amphonyl CA-AA (CHEMAG).

Digitized by srujanika@gmail.com

49 werden R² eine C₂-St-Alkyl bzw. eine C₂-St-Alkoxyl oder Alkoxycarbonylgruppe I und R³ Chloromethyl, für
reakt., Gomotyl, Bophytol oder Phytol bestimmt.
50 Als technischen Tonics wurden vor dem Eintog in die organischen Dispersionsformen Konservatoren nach
Funktion, bzw. Chronolographie über rauhreiche Aluminatsäure und durch hohe Lösungsfähigkeit von
51 z.B. Tertiärbutanol, Ethylalkohol oder Methylethanol gerechtigt.
52 Als Zusätze in die emulgierungsgebundenen Konservatoren eignen sich Vaseline
und Paraffine (z.B. Vaseline A-Silur, Rosinöl, Tocopherol und deren Esten), sowie auch wasser-
53 und Provinzöle (z.B. Vaseline A-Silur, Rosinöl, Tocopherol und deren Esten), sowie auch wasser-
wähnige Paraffinkonservatoren und Paraffinölgerüste.
54 ZUSAMMENSETZUNGSBEISPIELE von emulgierungsgebundenen, organischen Dispersionsformen KONSERVAT-
55 TRÄTEN, welche die Wirkstoffe der Formeln I bis XVIII enthalten und welche, wenn es zu Wasser-
56 scheidung oder Glucosidbildung oder physiologischer Kochsalzlösung (Ringöffnung) kommen würden, Formeln
57 8%iger Glucosidbildung oder physiologischer Kochsalzlösung (Ringöffnung) enthalten, die Konserven mit einem hydrolyseunempfindlichen
58 dynamisch stabile ULTRAMIKROEMULSIONEN condition, die Konserven mit einem hydrolyseunempfindlichen
59 Radius von 2,2 bis 3,0 nm aufweisen.
60 ① 0,5 bis 5 Gew.-% eines oder mehrerer Wirkstoffe der Formeln I bis XVIII,
61 6 bis 25 Gew.-% Isopropylmyristol, Isopropylpalmitol oder Myristyl 012 (Dipalmito-
62 Natriol),
63 0 bis 15 Gew.-% eines Phenolphthaleinoder-Tonics, wie z.B. Diphenoxy 3973 (CIBA-GEIGY), Tonics
64 5030 (CIBA-GEIGY), Zarotone AT oder AT (CIBA-GEIGY), Thiomect® JU (CIBA-GEIGY), Saponifer
65 FL (RHÖNE-POLLENIC),
66 6 bis 30 Gew.-% Isopropanol JFC 6005 (CIBA-GEIGY) und/oder TWEEN®-20 (ICI Specialty Chemicals),
67 0,5 bis 5 Gew.-% eines oder mehrerer Wirkstoffe der Formeln I bis XVIII,
68 ② 0,5 bis 5 Gew.-% eines oder mehrerer biostabilisierender Toningsstoffe der organischen Formel D012:

(100)

3

worin R² eine C₂-J1-Alkyl-, bzw. eine C₃-J1-Alkenyl- oder Alkapolyengruppe ist und R³ Citronellyl-, Fer-
nasyl-, Geranyl-, Isophytyl- oder Phytyl- bedeutet,
30 bis 45 Gew.-% Invadine® JFC 800% und/oder TWEEN®-20, bzw. TWEEN®-80 und/oder Glucamate® SSE-20 (AMERCHOL),

- 5 30 bis 45 Gew.-% Soprophor® FL
 - c) 0,5 bis 5 Gew.-% eines oder mehrerer Wirkstoffe der Formeln (I) bis (XVIII),
 - 5 bis 25 Gew.-% Ethylalkohol oder 2-Pentanol,
 - 0 bis 5 Gew.-% DMSO getrocknet,
 - bis zu 40 Gew.-% TWEEN®-20 oder TWEEN®-80 und/oder Glucamate® SSE-20,
- 10 bis zu 60 Gew.-% Soprophor® FL
 - d) 1 bis 5 Gew.-% eines oder mehrerer Wirkstoffe der Formeln (I) bis (XVIII),
 - 10 bis 25 Gew.-% Ethylalkohol oder 2-Pentanol,
 - 25 Gew.-% TWEEN®-20 und/oder TWEEN®-80,
 - 0 bis 15 Gew.-% Invadine® JFC 800%,
- 15 bis zu 50 Gew.-% Soprophor® FL
 - e) 0,5 bis 4 Gew.-% des Wirkstoffes laut Formel (I),
 - 3 bis 12 Gew.-% Ethylalkohol oder 2-Pentanol und/oder DMSO getrocknet,
 - 18 Gew.-% Citronellyl-10-Undecenoat (C_{11:1}-Citronellylesther) oder Citronellyl-Laurat (C_{12:0}-Citronellylesther),
- 20 34 bis 40 Gew.-% Invadine® JFC 800%,
34 bis 40 Gew.-% Soprophor® FL
N.B.: INVADINE® JFC 800% (CIBA-GEIGY) ist ein wasserfreier tert. Octylphenylpolyoxyethylen Ether mit 9 bis 10 Oxyethylen Gruppen.
- 25 TWEEN®-20 (ICI Specialty Chemicals) ist die Handels-Bezeichnung für das Polyoxymethylene-(20)-sorbitan Monolaurat, TWEEN®-80 für das Polyoxymethylene-(20)-sorbitan Monocrostat. CTFA Classification als Polysorbate 20, bzw. 80, [Merck-Index 11.7569]. Glucamate® SSE-20 (AMERCHOL) ist die Handelsbezeichnung für das Polyethylenglykol-20 Methyl Glucose Sequestearat gemäß CTFA Classification.
- 30 BEISPIEL für die pharmazeutische Herstellung eines Systempräparatz mit erfindungsgemässen Konzentraten in der Form von «multiple units».

<u>a) Granulierung</u>		
	Metcloose® 90 SH-4000 (Shin-Etsu Chemical)	90.0 g
35	Avicel® PH-101	80.3 g
	Erfindungsgemässes KONZENTRAT	139.4 g
	Aerosil® 200	80.3 g
	Σ	390.0 g

- 40 Granulierenformen im Schnellmischer oder im Rotationsbett unter Zusatz von 110 g Ethanol, brechen, sieben 18 bis 42 mesh, trocknen 24 h bei 40°C.
- 45 b) MSR- und RETARD-Ausrüstung im Rotationsbett mit AQCATE® AS-HG (Shin-Etsu Chemical) und Talk

<u>c) Zusammensetzung fertiges Granulat/bzw. Micropellets</u>		
	Kernmaterial	44%
50	Erfindungsgemässes KONZENTRAT	25%
	MSR-Beachichtung	31%
	Σ	100%

- 55 N.B.: MSR = Magensaft-Resistenz. Die Pellets/Granulat gemäß a) können auch ohne Befilmung unmittelbar in Kapseln abgefüllt werden, welche aus AQCATE® (HPMC-AS-M oder HPMC-AS-N) hergestellt sind, mit Aceton/Ethanol 1:1 verschlossen werden und so die Funktionen der MSR und der verzögerten Abgabe (Slow-Release, Retard) angemessen steuern.

60 Biologische Prüfungen

Die antitumorale Wirkung von spontan dispergierbaren Konzentraten mit Wirkstoffen gemäß den Herstellungsbspalten a) bis c), sowie den Aufarbeitungsbspalten a) bis e) wird anhand folgender Prüfungsergebnisse bestätigt:

65

1. In vitro-Tests mit geeigneten Tumorzell-Linien

Es wurde ein biologisches Assay-System entwickelt, das mit Mikrotiterplatten und Verdünnungsreihen arbeitet. Angesetzt werden je 10⁴/ml Tumorzellen in Kulturmedium RPMI 1640 mit 10% Röntgen-Kalbserum inkubiert (GIBCO); sie werden so undicht ausgesetzt, dass sie während des Assays wachsen können, in nichtkonfluenter Monolayers. Die Probenzugebe erfolgt nach 6 bis 24 Stunden, mit 100 µl pro Reihe, die man im 1. Loch mit 100 µl Medium versetzt. Darauf wird die Hälfte entnommen und in das folgende Loch eingebracht, wieder mit 100 µl Medium versetzt, usw. Es entsteht eine geometrische Verdünnungsreihe #16.

Die Proben werden im Plaque Assay während 3 bis 5 Tagen bei 37°C mit 3% CO₂ inkubiert. Anschließend lärbenfäden mit 0,1% Kristallviolett (Fluka, Buchs) in einer Lösung von 70% Methanol, 1% Formaldehyd, 28% Wasser. Die Auswertung wird am Mikroskop vorgenommen, Vergrößerung 300-fach. Man bestimmt die größte cytotoxische Verdünnung. Die quantitative Auswertung lässt sich auch mittels Scanning und Absorptionsmessung am Spektralphotometer vornehmen.

15 2. Prüfung auf Zelloxizität

20 2.1 Zelloxizität der MARGENOL®-KONZENTRATE
geprüft an PyG-Zellen (Virus infizierte ST3 Maus-Fibroblasten)

SUBSTANZ	PRÄPARATE IM TEST	EXPOSITION 48 h		EXPOSITION 120 h In Verdünnung wirksam bis zu 1:
		In Verdünnung wirksam bis zu 1:	In Verdünnung wirksam bis zu 1:	
2% TAXOL-W.S.	MIKROEMULSION			
	1:1000	100 000	320 000	
2% TAXOL-W.S.	AKTIVSUBST.	8 Mio.	16 Mio.	
	ME 1:500	20 000	320 000	
5% ZEAXANTHIN- β - Undecanoat	AKTIVSUBST.	1 Mio.	16 Mio.	
	ME 1:1000	40 000	160 000	
5% ZEAXANTHIN- β - Palmitat (PHYSALIEN)	AKTIVSUBST.	800 000	3,2 Mio.	
	ME 1:500	20 000	160 000	
5% C ₁₁ -AZA- FRINYL ESTER	AKTIVSUBST.	400 000	3,2 Mio.	
	ME 1:500	40 000	160 000	
5% VITAMIN D ₃ -10- UNDECENOAT	AKTIVSUBST.	80 000	320 000	
		1,6 Mio.	6,4 Mio.	

40 Verdünnungen:

Erste Zeile auf Konzentrat berechnet

Zweite Zeile auf Aktivsubstanz-Gehalt berechnet

45 N.B.: TAXOL- und BACCATIN-III-Reinsubstanz (isoliert aus Himalayan Yew) bezogen von DABUR
INDIA Ltd., 22, Site IV, SAHIBABA GHAZIABAD, U.P., INDIA. (Dr. P.S. Srivastava). 31. Mai 1994 und
1. Juni 1995.

50

55

60

65

2.2 Versuchswiederholung auf Py6-Zellen mit den gleich wie unter 2.1 zusammengesetzten MARIGENOL®-Konzentraten aber mit verschiedenen Expositionszellen.

SUBSTANZ KONZENTRAT	PRÄPARATE IM TEST	EXPOSITION 24 h In Verdünnung wirksam bis zu 1:	EXPOSITION 72 h In Verdünnung wirksam bis zu 1:
2% TAXOL-W.S.	MIKROEMULSION 1:1000 AKTIVSUBST.	40 000 2 Mio.	160 000 8 Mio.
10 2% TAXOL-W.S.	ME 1:500 AKTIVSUBST.	80 000 4 Mio.	1 280 000 64 Mio.
15 5% VITAMIN D ₃ -ALL-RETINAT	ME 1:500 AKTIVSUBST.	10 000 200 000	640 000 12,8 Mio.
5% VITAMIN D ₃ -10-UNDECENOAT	ME 1:500 AKTIVSUBST.	40 000 800 000	160 000 3,2 Mio.

Verdünnungen:

Erste Zeile auf Konzentrat berechnet
Zweite Zeile auf Aktivsubstanz-Gehalt berechnet
22. Juni 1994

2.3 Vergleichspräparate mit besserer Zugänglichkeit

Prüfung an Py6-Virus transformierten Mausfibroblasten

SUBSTANZ	PRÄPARATE IM TEST	EXPOSITION 24 h In Verdünnung wirksam bis zu 1:	EXPOSITION 72 h In Verdünnung wirksam bis zu 1:
30 5% ZEAXANTHIN- α - Undecenoat	ME 1:1000 AKTIVSUBST.	20 000 400 000	320 000 6,4 Mio.
35 5% PHYSALIEN	ME 1:500 AKTIVSUBST.	10 000 200 000	80 000 1,6 Mio.
40 2% C _{11:1} - β - APOCAROTIN ESTER (Undecenoat)	ME 1:1000 AKTIVSUBST.		640 000 32 Mio.
45 1% C _{12:0} - β - APOCAROTIN ESTER (Lauroyl)	ME 1:100 AKTIVSUBST.		512 000 51,2 Mio.
50 1% C _{18:0} - β - APOCAROTIN ESTER (Stearoyl)	ME 1:100 AKTIVSUBST.		128 000 12,8 Mio.
55 1% C _{18:1} - β - APOCAROTIN ESTER (Oleoyl)	ME 1:500 AKTIVSUBST.		160 000 16 Mio.
55 1% C _{11:1} - AZAFRINYL ESTER	ME 1:100 AKTIVSUBST.		256 000 25,6 Mio.
55 1% ISOZEAXANTHIN- α -10-UNDECENOAT	ME 1:100 AKTIVSUBST.		256 000 25,6 Mio.
Exposition: 72 h			

60

65

3.0 Vergleich des Einflusses der TAXOL-FORMULIERUNG auf die Bioverfügbarkeit und die spezifische Wirksamkeit:

5 A. Konzentrate hergestellt mit IPM als Coemulgator und mit Cremophor® EL (BASF) als Tensid
 (Aber kein Alkohol!)
 5 B. Konzentrate hergestellt mit C11:1- β -CITRONELLYL-ESTER (MARIGEN) und mit je 50% Invadin®
 JFC 800% (CIBA-GEIGY) und 50% Soprophor® FL (PHONE-POULENC) als Tensidmischung
 10 Wässrige MAKRO-, bzw. ULTRAMIKROEMULSIONEN im Verhältnis 1:1000, hergestellt aus den jeweiligen Konzentraten

10 Prüfung der Zelltoxizität mit Pyo-Zellen (Polyoma-Virus transformierten ST3-Mausfibroblasten)

	PRÄPARATE KONZENTRATE mit	EXPOSITION 48 h zelltoxisch bis 1:	EXPOSITION 96 h zelltoxisch bis 1:
18	A 2% TAXOL-W.S.	320 000	640 000
	B	640 000	1 280 000
	A 2.5% VITAMIN A	40 000	40 000
20	B ALKOHOL (RETTINOL)	1 280 000	1 280 000
	A 2.5% VITAMIN A	20 000	20 000
	B SÄURE (TRETINOIN)	640 000	640 000
	A	-	-
	B 2% LYCOPIN ?		12 800 000
25	? Exposition: 72 h.		

3.1 VERGLEICHSPRÜFUNGEN (FORTSETZUNG)

30 A TAXOL-W.S., als spontan dispergierbares MARIGENOL®-Konzentrat formuliert, das eine wässrige Ultramikro-emulsion bildet
 30 B TAXOL-W.S., als herkömmliches Konzentrat formuliert, das nur eine wässrige Makro-emulsion bildet
 35 C BACCATIN-III-W.S., als spontan dispergierbares MARIGENOL®-Konzentrat formuliert, das eine wässrige Ultramikro-emulsion bildet
 35 D BACCATIN-III-W.S., als herkömmliches Konzentrat formuliert, das nur eine wässrige Makro-emulsion bildet

	GEPRÜFTES KONZENTRAT	MIKRO-MAKRO- EMULSION 1:100	EXPOSITION 24 h, In Verdünnung wirksam bis zu 1:	EXPOSITION 48 h, In Verdünnung wirksam bis zu 1:
	mit 1%-WIRKSUBSTANZ	AKTIVSUBSTANZ A.S.		
45	A: TAXOL-W.S.	EM 1:100 A.S.	128 000 12,8 Mio.	512 000 51,2 Mio.
	B: TAXOL-W.S.	EM 1:100 A.S.	< 4000 < 400 000	< 4000 < 400 000
50	C: BACCATIN-III-W.S.	EM 1:100 A.S.	128 000 12,8 Mio.	256 000 25,6 Mio.
	D: BACCATIN-III-W.S.	EM 1:100 A.S.	< 4000 < 400 000	< 4000 < 400 000

55 Man beachte, dass die erfindungsgemäße Konzentrationbildung der herkömmlichen Formulierung weit überlegen ist in der Wirkung. So beträgt deren Bioreaktivität schon in der kurzen Expositionzeit von 24 h das 30-fache und bei 48 h Exposition das über 125-fache des bislang üblichen und Erreichbaren.
 55 MARIGENOL®-Konzentrate mit C11:1-Citronellylesther als Coemulgator und mit einer 1:1 Tensid-Mischung Invadin® JFC 800%/Soprophor® FL formuliert. Herkömmlich formulierte Konzentrate mit Isopropylmyristat als Coemulgator und mit Cremophor® EL (BASF) aufgebaut.
 60 In beiden Fällen gleiches anteiliges Verhältnis W.S.: Coemulgator: Tensiden angenommen.

3.2 Die analytische Nachprüfung der unterschiedlichen Formulierungen am Institut für Polymere an der E.T.H. in Zürich ergab die nachfolgenden Messdaten:

	PRÄPARAT	MIZELLGRÖSSE in nm
5	A: TAXOL-W.S.	2.2-2.3 ohne Filter
10	B: TAXOL-W.S.	5-6 60-100 starke Streuung breite Verteilung 10%-Filter
15	C: BACCATIN-III-W.S.	2.2-3.0 ohne Filter, aber 75%
20	D: BACCATIN-IB-W.S.	4-12 starke Streuung breite Verteilung 10%-Filter
25	ESTER-VERBINDUNGEN: E: QUERGETIN-PENTA-UNDECENOAT F: β -OESTRADIOL-O-OLEAT G: APIGENIN-TRILAUROT H: GENISTEIN-DILAUROT	2-3 2-3 2-3 2-3

Gemessen wurde die wässrige Emulsion 1:100 der 1%-igen Konzentrate mittels dynamischer Lichtstreuung (DLS) in je 3 Winkelstellungen, mit je 10 Einzelmessungen, an einem speziell ausgerüsteten -Fiber-optic Spectrometer- des Instituts für Polymere, E.T.H., Zürich. Für die Beschreibung der Methodik und des Gerätes vgl. -Mode-selective dynamic light scattering: theory versus experimental realization-. Thomas Gisler et al., Applied Optics/Vol. 34, No. 18/20 June 1995.

4.0 Analytischer Nachweis

4.1 Identifikation von TAXOL-Wirksubstanz

Kapillarzonen-Elektrophorese mit einem Gerät P/ACE 2100 von Beckman Instruments, bzw. einem BioFocus Integrator von BIO-RAD Laboratories.

40 Bedingungen:

Puffer pH = 7.0
50 mM Na-phosphat
100 mM Boratlösung
50 mM SDS
Sichtbar 0.2 µm

Zu 20 ml Puffer werden 5 ml Methanol gegeben. Kapillare: HP bubble cell FS 50 µm Ø, 37 cm. Injektion: 20 psi/sec. Run 15 kV. Messung bei 182 nm. Der Ester peak erscheint nach gut 5 Minuten. Detektionsgrenze 0.5 ppm, sehr hohe Auflösung.

50 4.2 Identifikation der Konzentrat-Mizellen in der wässrigen Mikroemulsion/bzw. im gereinigten Zellplasma der Tumorzelle.

Gleiche Methodik wie 4.1.

Der charakteristische Peak erscheint nach ca. 6 Minuten.

55 4.3 Nachweis der Membran-Penetration an der Tumorzelle

Am Lichtmikroskop (wie auch am Elektronenmikroskop) lässt sich aufzeigen, dass wenige Stunden nach der Inkubation (Beispiel Py6-Zellen = Polyoma-Virus transformierte 3T3-Mausfibroblasten; dünn ausgesät, mittlere Verdünnung der Wirkstoff-Konzentrale) sich ein Kranz von Vakuolen um den Zellkern herum ausbildet. Als Markersubstanz kann dem Konzentrat eine kleine Menge Centhexanthin beigegeben werden, das eine deutliche Fluoreszenz besitzt.

Der analytische Nachweis, dass diese Vakuolen die Taxol-Wirksubstanz enthalten, erfolgt ebenfalls mittels mizellärer Kapillar-Zonen-Elektrophorese -MECC-, (Beckman Instruments, P/ACE System 2100 oder BioFocus von Bio-Rad).

4.4 Kontrolle des Molekulargewichtes der Wirksubstanz im gereinigten Zustand (nach Dilution) mittels UV-MALDI-Massenspektroskopie unter Verwendung von Sinapinsäure als Matrix (Trans-3,5-dimethoxy-4-hydroxy-Zimtsäure, $C_{14}H_{12}O_6$, Fluka 86 430).

5 Vgl. im übrigen: Koji Otsuka et al.: Separation of lipophile compounds by micellar electrokinetic chromatography with organic modifiers, Electrophoresis, 1994, 15, 1280-83 (VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim).

5.0 Verträglichkeit der MARIGENOL®-Präparate

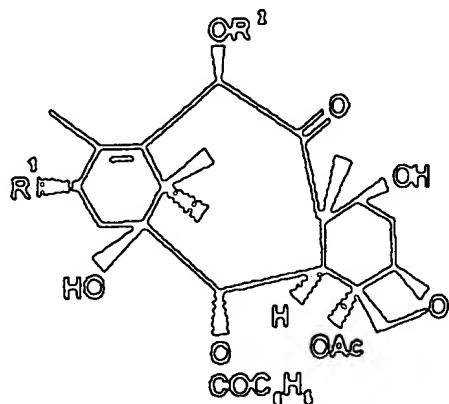
10 AUSWIRKUNG auf das BLUTBILD TOXIZITÄT von MARIGENOL®-KONZENTRATEN an der BALB/c-Maus, %-Anteil der Blutkörperchen

	Präparat	L	M	N	E	B
15	G 17	10 ⁻⁷	70 ± 6	11 ± 3	13 ± 4	6 ± 4
		10 ⁻⁶	77 ± 6	6 ± 3	11 ± 4	5 ± 4
		10 ⁻⁵	69 ± 10	7 ± 5	22 ± 8	2 ± 2
20	G 41	10 ⁻⁷	77 ± 6	6 ± 3	13 ± 5	3 ± 3
		10 ⁻⁶	78 ± 4	10 ± 2	10 ± 4	1 ± 1
		10 ⁻⁵	80 ± 6	8 ± 2	10 ± 6	12 ± 1
25	G 44	10 ⁻⁷	74 ± 17	10 ± 1	20 ± 9	1 ± 1
		10 ⁻⁶	74 ± 6	9 ± 4	14 ± 7	4 ± 3
		10 ⁻⁵	76 ± 5	8 ± 4	16 ± 8	2 ± 1
30	G 58	10 ⁻⁷	78 ± 4	10 ± 4	10 ± 4	2 ± 1
		10 ⁻⁶	69 ± 10	11 ± 3	18 ± 4	1 ± 1
		10 ⁻⁵	77 ± 5	8 ± 4	14 ± 2	2 ± 1
35	KONTROLLEN (Phys. Puffer)		76 ± 5	8 ± 2	15 ± 4	1 ± 1
40	G 17 2%-Konzentrat mit C ₂₀ :C ₂₀ -CHOLESTERYL-ESTER (Cholestanoyl-Valeoate) G 41 2%-Konzentrat mit C ₁₇ :1-ERGOSTERYL-ESTER (Ergostanyl-10-Undecenoate) G 44 2%-Konzentrat mit C ₁₈ :2-CHOLECALCIFERYL-ESTER (C ₁₈ :2-D ₉ ; Vitamin-D ₃ -Unsatu) G 58 2%-Konzentrat mit C ₄ :1-CHOLECALCIFERYL-ESTER (C ₄ :1-D ₉ ; Vitamin-D ₃ -Crotoneate)					
45	Verdünnungen: 10 ⁻⁷ = 0,1 ppm Konzentrat; 0,002 ppm Wirksubstanz 10 ⁻⁶ = 10 ppm Konzentrat; 0,200 ppm Wirksubstanz 10 ⁻⁵ = 1000 ppm Konzentrat; 20,000 ppm Wirksubstanz (auf die wässrige Mikroemulsion berechnet)					
50	Legende: L = Lymphocyten M = Monocyten (Makrophagen) N = Neutrophile Granulozyten E = Eosinophile Granulozyten B = Basophile Granulozyten					
55	Durchführung der Proben: Prof. Dott. Guido FORNI, Dott. Stefania VAL, Università di Torino, Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche, Ospedale San Luigi Gonzaga, I-10 043 ORBASSANO (TO), August/September 1993. Test mit normalen 6-wöchigen weiblichen BALB/c nAcr (H-2d)-Mäusen, gefüttert von Charles River Laboratories, Calco (Italien). Während 4 Wochen täglich zweimalige Injektion i.v. von je 0,250 ml wässriger Mikroemulsion, gebildet aus den angegebenen Konzentraten, bzw. mit physiologischem Puffer für die Kontrollen. Färbung mit May Grünwald-Giemsa.					
60	Zeit der Behandlung: 28 Tg. Blutanalyse: nach der letzten Injektion Anzahl Tiere: 13 Gruppen zu je 5 Tieren RESULTAT: Es treten keine signifikanten Unterschiede auf zu den Kontrollen. Es konnte keine Toxizität der Konzentrate auf die Leukozyten-Population festgestellt werden. Auch die Erythrozyten-Population zeigte normale Werte. Alle Tiere waren und blieben gesund bis zum Schluß der Versuche.					

Punktangaben

1. Spontan abgesetzte Konzentrat. zwischen ml Wasser. und Störiger Glucosidase 600 ml
 5. Abgärung verläuft homogenmatisch durch Umladungsmöglichkeit der Moleküle und durch ihre
 10. hydrolytischen Reaktionen von 2,2 bis 3,0 ml aufzutreten. Durch bestimmen, dass es eine hydrolytische Kon-
 15. zentration besteht:
 20. 0,5 bis 5 Gew.-% dieser Konzentration bei den Formeln (I) bis (VIII), bzw. einer Konzentration seines
 25. Wasserstoffes:

16



17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

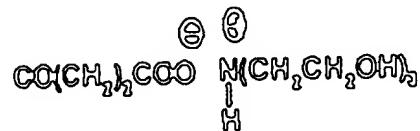
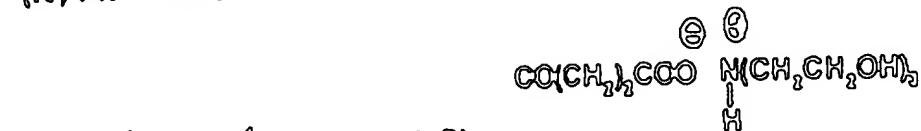
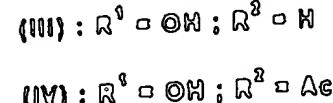
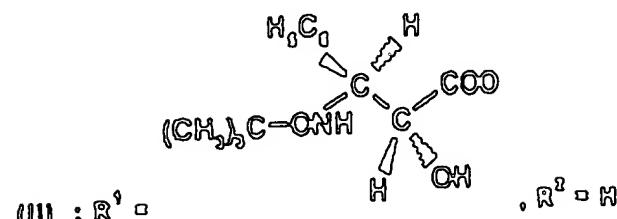
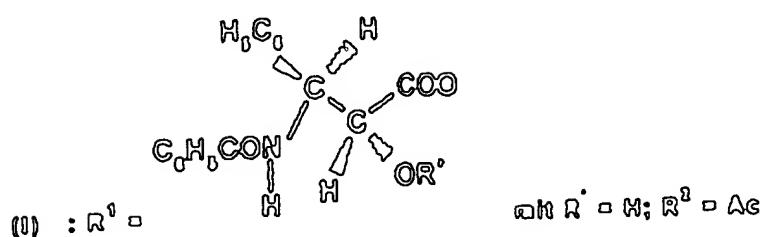
33

34

35

36

37



$\text{CO}(\text{CH}_2)_2\text{COO}^- \text{Na}^+$
 $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH})_2$

5 (VII) : $\text{R}^2 = \text{Ac}$, R^1 w/o in (II) mlt $\text{R}^1 =$

10 (VIII) : $\text{R}^2 = \text{Ac}$, R^1 w/o in (II) mlt $\text{R}^1 =$

$\text{CO}(\text{CH}_2)_2-\text{CONH}(\text{CH}_2)_2-\text{N}(\text{CH}_2)_2\text{Cl}^+$

15 (VIII') : $\text{R}^2 = \text{Ac}$, R^1 w/o in (II) mlt $\text{R}^1 =$

$\text{COCH}_2-\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{CH}_2\text{SO}_3^-$

20 (IX) : $\text{R}^2 = \text{Ac}$, R^1 w/o in (II) mlt $\text{R}^1 =$

$\text{COCH}_2\text{OCH}_2\text{COOH}$
 $\text{COCH}_2\text{SCH}_2\text{COOH}$

25 (XII) : $\text{R}^2 = \text{Ac}$, R^1 w/o in (II) mlt $\text{R}^1 =$

$\text{COCH}_2\text{SO}_2\text{CH}_2\text{COOH}$
 $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{SO}_2\text{C}_6\text{H}_5$

30 (XIII) : $\text{R}^2 = \text{Ac}$, R^1 w/o in (II) mlt $\text{R}^1 =$

$\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{SO}_2\text{-p-nitrophenyl}$
 $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{SO}_2\text{-p-anisophenyl}$

35 (XIV) : $\text{R}^2 = \text{Ac}$, R^1 w/o in (II) mlt $\text{R}^1 =$

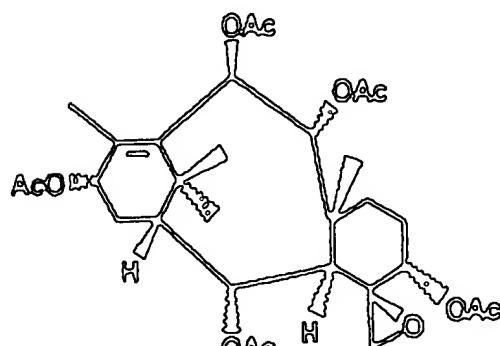
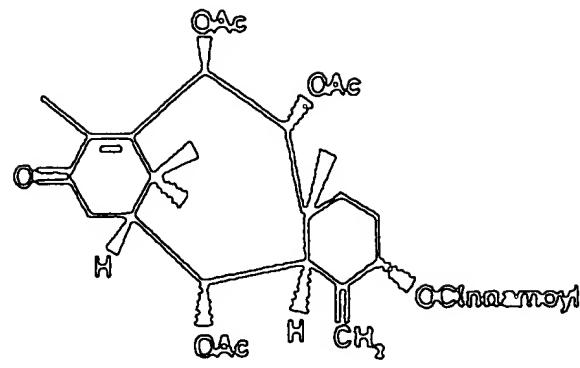
$\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{SO}_2\text{-p-nitrophenyl}$

40 (XV) : $\text{R}^2 = \text{Ac}$, R^1 w/o in (II) mlt $\text{R}^1 =$

45 (XVI) :

50 (XVII) :

55



5 bis 25 Gew.-% eines der Hydroxy-, d.h. Desmethyl-derivaten, pharmazeutisch relevanten Lösungsmittel oder Lösungsmittelkombinationen.

5 bis 20 Gew.-% eines pharmazeutisch relevanten Triterpenes oder Triterpenoides,

und wahrsch. 0 bis 10 Gew.-% eines Vitamin- oder Provitamin- und

0 bis 10 Gew.-% eines Steroids, Acetylenes oder Pentaacyclicosins.

2 Ein pharmazeutisch verwendbares Kombinationspräparat das aus 50 Gew.-% des sparten dispersierbaren Konzentrates gemischtes Antezuck 1 und 10 Gew.-% pharmazeutisch relevanter Triterpenen und/oder Verdünnungsmitteln besteht.

3 Sparten dispersierbares Konzentrat enthaltend Triterpen oder Triterpenologe Verbindungen der Formeln (I) bis (XVII) gemischtes Antezuck 1, als Mittel zur Herstellung eines pharmazeutischen Präparates mit erhöhter und gut vorliegender Wirksamkeit gegen Tumoren, Elektro- und Prostata-

4 Sparten dispersierbares Konzentrat gemischtes Antezuck 1, bestehend aus folgenden konstitutionellen Komponenten:

0,5 bis 5 Gew.-% eines oder mehrerer Wirkstoffe der Formeln (I) bis (XVII),

0,5 bis 25 Gew.-% Caproyglycerol, Caproyglycerin oder Neutrall (Oleum neutrum), oder eines oder mehrerer biologischer Triterpenolster der abgeleiteten Formel (XVIII);

R²-COO-R³ (XIX)

wobei R² ein C₂₋₁₁-Alkyl, eine C₂₋₁₁-Alkenyl- oder eine C₂₋₁₁-Alkynylgruppe ist und R³ Cholinyl-, Farnasyl-, Geranyl-, Isopentyl- oder Phytyl bedeutet.

30 bis 45 Gew.-% eines Phosphoruscarboxylic-Triterpenes,

30 bis 45 Gew.-% des wasserfreien ten Octylphenoxyalkoxyethylesters mit 9 bis 10 Oxyethylgruppen.

5 Sparten dispersierbares Konzentrat gemischtes Antezuck 1, bestehend aus folgenden konstitutionellen Komponenten:

0,5 bis 5 Gew.-% eines oder mehrerer Wirkstoffe der Formeln (I) bis (XVII),

0,5 bis 25 Gew.-% eines oder mehrerer biologischer Triterpenolster der abgeleiteten Formel (XVIII);

R²-COO-R³ (XX)

wobei R² ein C₂₋₁₁-Alkyl, eine C₂₋₁₁-Alkenyl- oder eine C₂₋₁₁-Alkynylgruppe ist und R³ Cholinyl-, Farnasyl-, Geranyl-, Isopentyl- oder Phytyl bedeutet.

15

49

49

56

四

60

6